

**Biodégradation de NAPLs:
Couplage hydrodynamique/croissance du biofilm**



Présenté par:

M. Tiangoua KONE



Direction de Thèse:

M. Michel BUÈS, Professeur

M. Fabrice GOLFIER, Maître de Conférences

M. Constantin OLTEAN, Maître de Conférences

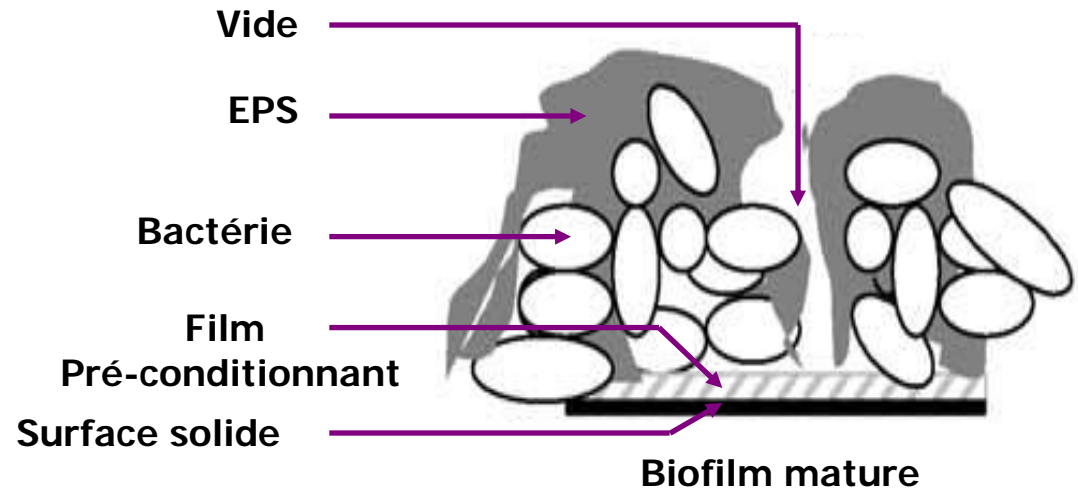




- ❖ **Contexte de l'étude**
 - **Définition**
 - **Application des biofilms**
- ❖ **Objectif**
- ❖ **Contraintes expérimentales**
- ❖ **Approche méthodologique**
- ❖ **Étude microbiologique**
- ❖ **Étude hydrodynamique**
- ❖ **Conclusion**
- ❖ **Perspectives**

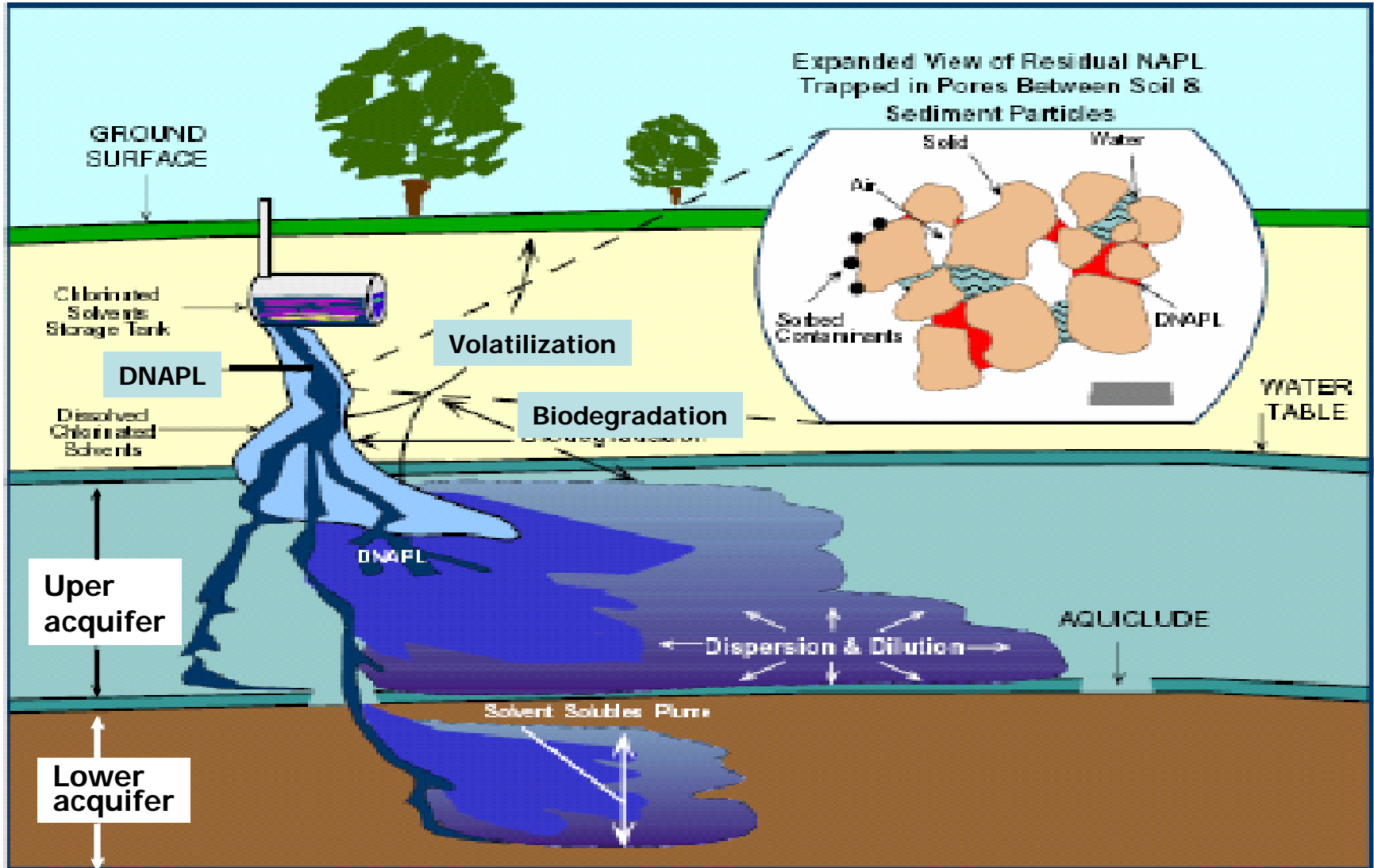


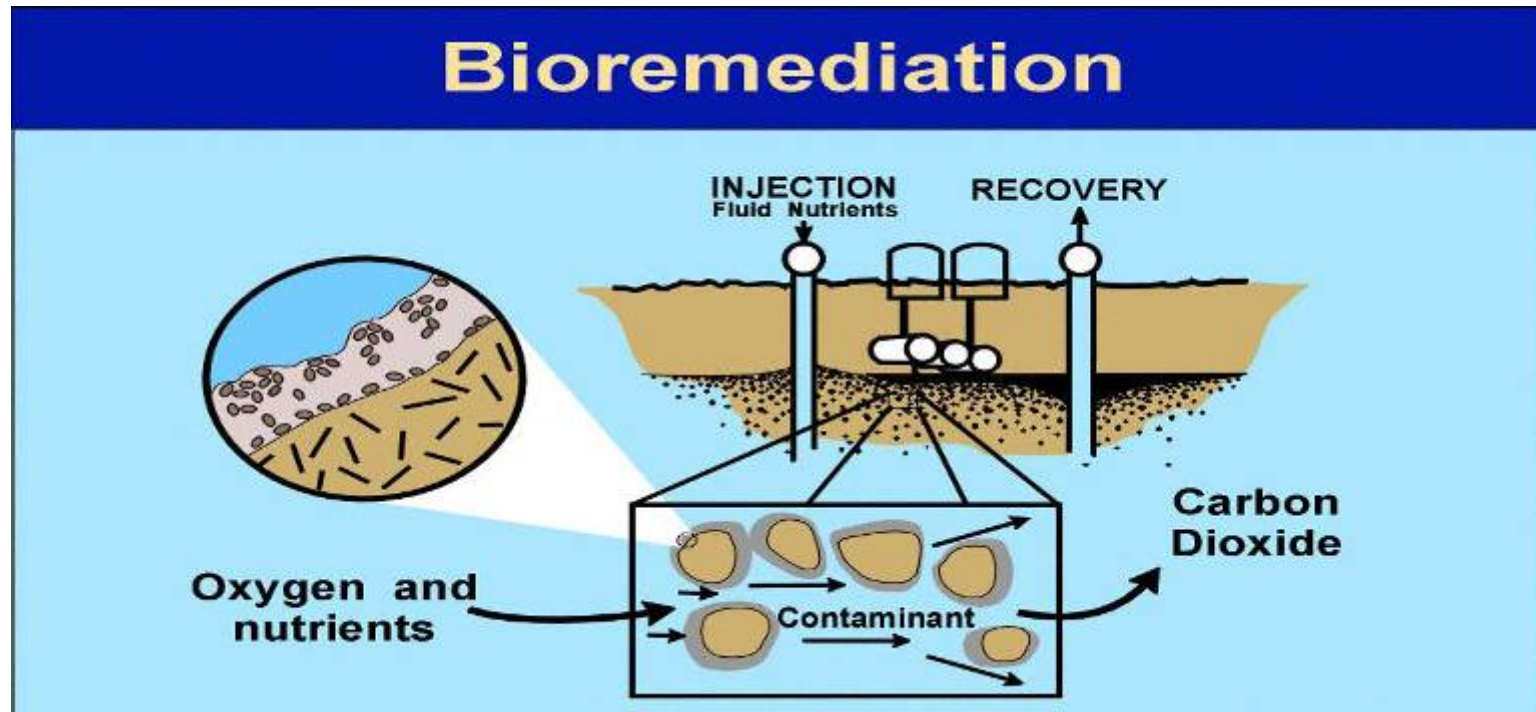
- ❑ Un biofilm est une communauté de microorganismes enrobés dans une matrice de polymères organiques, adhérant à une surface d'une part et d'autre part les uns aux autres



- ❖ Souvent perçus comme des réservoirs de contamination dans l'industrie agroalimentaire
- ❖ Sources de maladies nosocomiales
- ❖ Augmentation de la résistance aux antibiotiques

❖ Mais quelques applications positives des biofilms

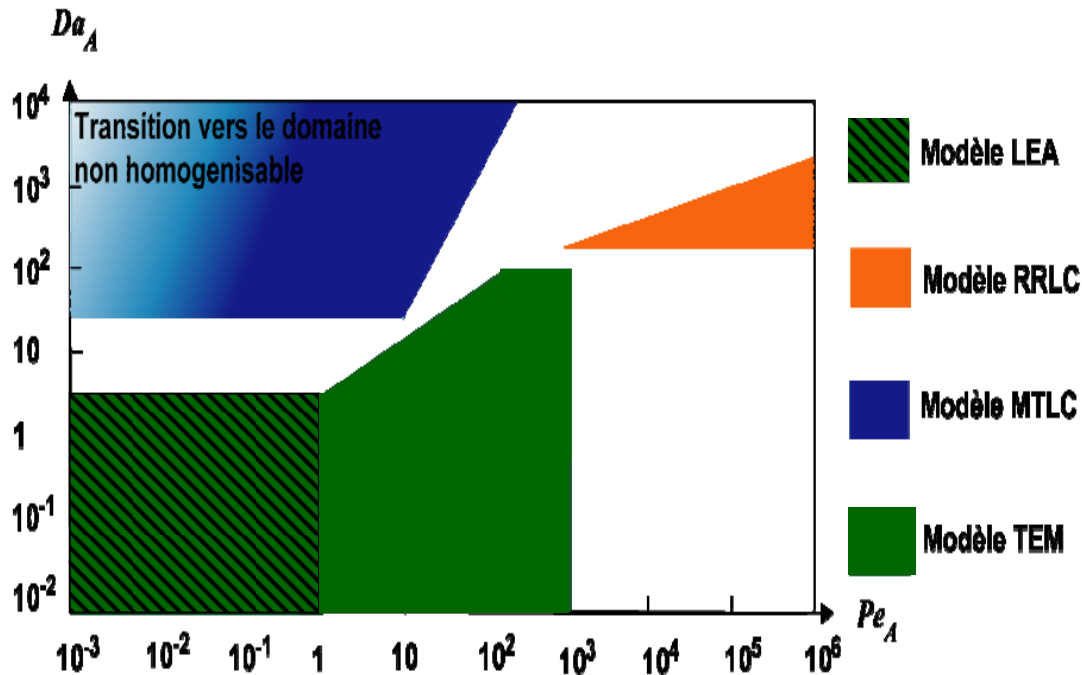




- ❖ Plusieurs études sur les interactions polluants/biofilm en cours en milieu poreux
- ❖ Plusieurs modèles numériques de croissance de biofilm et de transport de soluté en milieu poreux avec biofilm ont été développés
- ❖ Mais insuffisance de données expérimentales quantitatives



- ❖ Meilleure compréhension des interactions croissance d'un biofilm/dégradation d'un polluant de type NAPL (Non Aqueous Phase Liquid) en milieu poreux
- ❖ Fournir des données expérimentales pour la validation de modèles de simulations numériques (Thèse de Laurent ORGOGOZO)



(Orgogozo, 2009)

- ❖ Approche basée sur le changement d'échelle
- ❖ Prise en compte des conditions hydrodynamiques
- ❖ Prise en compte des taux de réaction du biofilm



- ❑ **Maîtrise de la formation d'un biofilm dans un milieu poreux :**
 - ❖ **Monitoring de la croissance du biofilm**
 - ❖ **Formation d'un biofilm dense et spatialement homogène**
 - ❖ **Détermination des paramètres du modèle de simulations numériques par la caractérisation *in situ* du biofilm :**
 - **Fraction volumique du biofilm dans le milieu poreux,**
 - **Fraction volumique de bactéries actives dans le biofilm,**
 - **Fraction volumique d'EPS dans le biofilm,**
 - **Porosité du biofilm**
- ❑ **Étude de la biodégradation d'un polluant organique dans un milieu poreux colonisé par un biofilm :**
 - ❖ **Acquisition des champs de concentration du polluant lors d'un essai de traçage d'un soluté biodégradable**
 - ❖ **Couplage dynamique du biofilm/cinétiques de réactions en milieu poreux**



Étude hydrodynamique avec un traceur non réactif : **Érioglaurine**



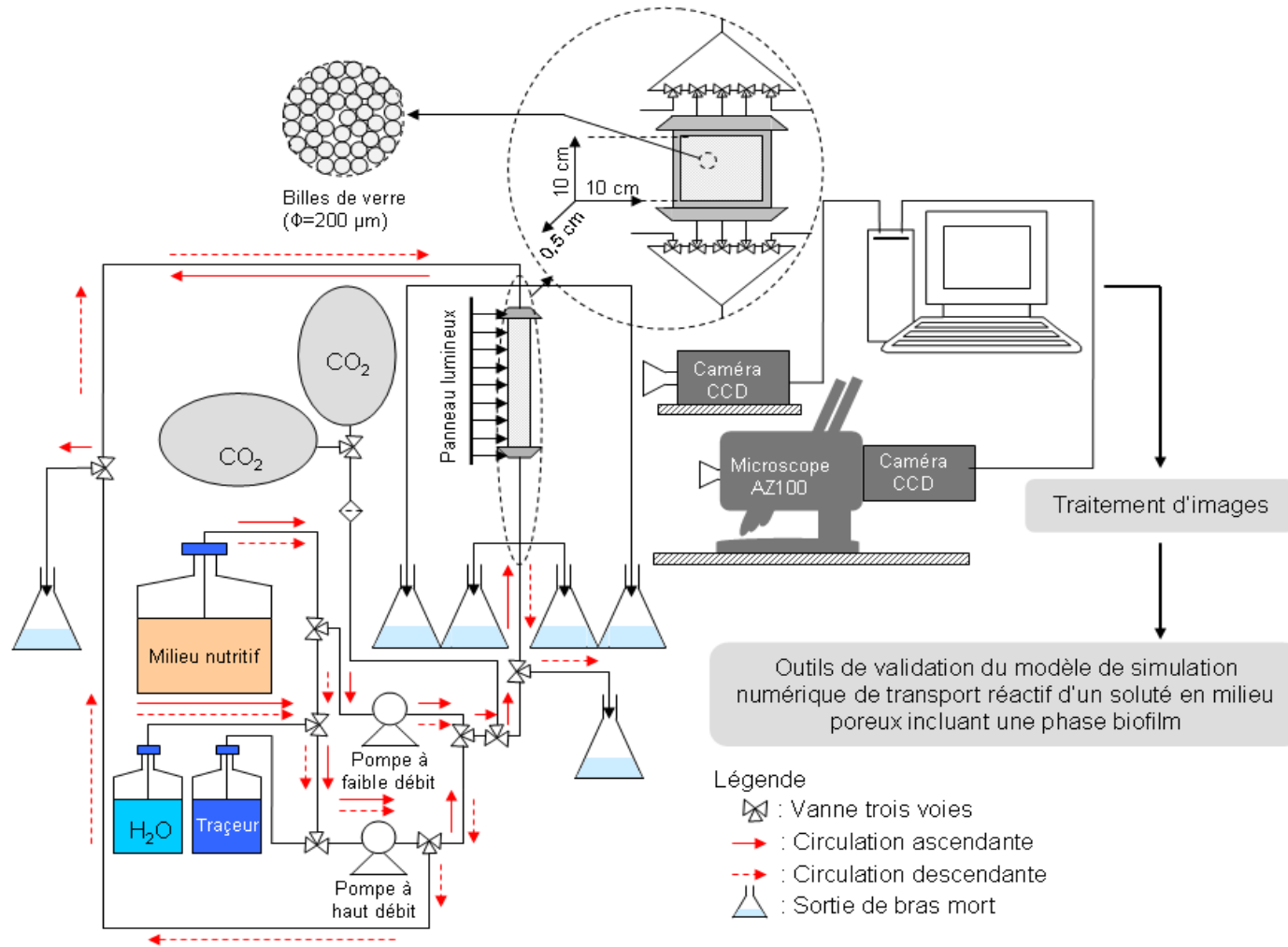
Étude de la dégradation d'un polluant artificiel : **colorant alimentaire**



Étude de la dégradation d'un polluant réel : **NAPL (Non Aqueous Phase Liquid) sous forme dissoute**



- ❖ **Monitoring du transport de soluté**: visualisation *in situ* par caméra CCD (Charge Coupled Device) assistée; mesure *ex-situ* par spectrophotométrie ou par chromatographie en phase gazeuse
- ❖ **Caractérisation du biofilm** : visualisation *in situ* par laser et par microscopie AZ100



Outils de validation du modèle de simulation numérique de transport réactif d'un soluté en milieu poreux incluant une phase biofilm



- Souche bactérienne modèle : *Shewanella oneidensis* MR-1
bacille non sporulant Gam-, aérobie, anaérobie facultatif
Température optimale de croissance = 30 °C
7 < pH optimum < 8

Caractéristiques du milieu poreux modèle

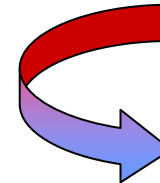
□ Préparation de l'inoculum

- ❖ Préculture durant 15h
- ❖ Culture durant 3-4h pour avoir 10^{-8} bactéries (DO = 0.02)
- ❖ Inoculation par circulation dans la cellule d'écoulement saturée en solution nutritive
- ❖ Alimentation en continu avec la solution nutritive

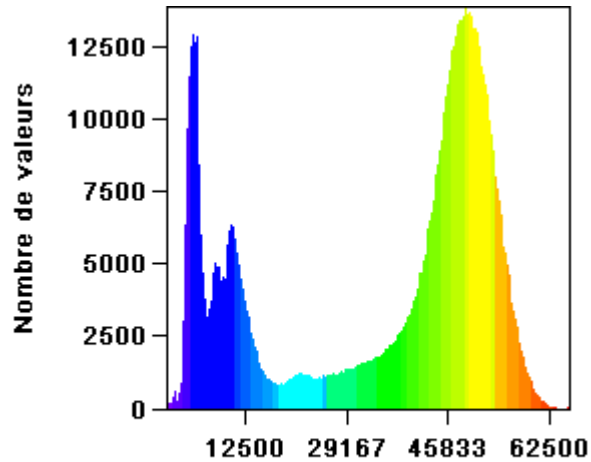
□ Caractérisation du biofilm

- ❖ Acquisition d'images avec la caméra CCD intensifiée : Cellule pleine d'eau physiologique (blanc) ou de solution de dextran blue (échantillon)
- ❖ Traitement d'images

- ❖ Avoir une distribution granulométrique la plus homogène possible
- ❖ Permettre des observations avec des outils optiques
- ❖ Etre inerte ou peu réactif vis-à-vis du traceur et du colorant biodégradable
- ❖ Favoriser l'adhésion des bactéries

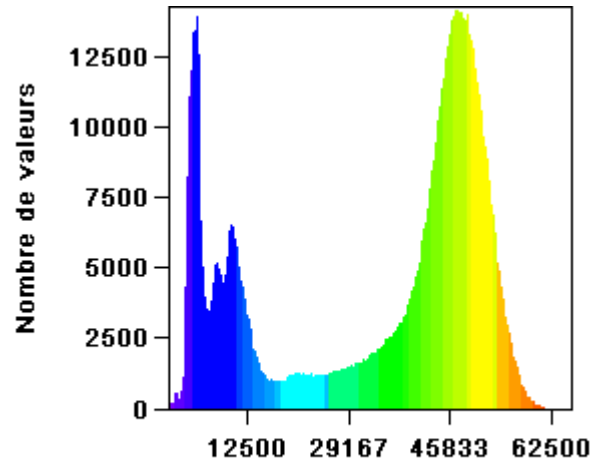


Billes de verre de
diamètre moyen =
212-300 μm



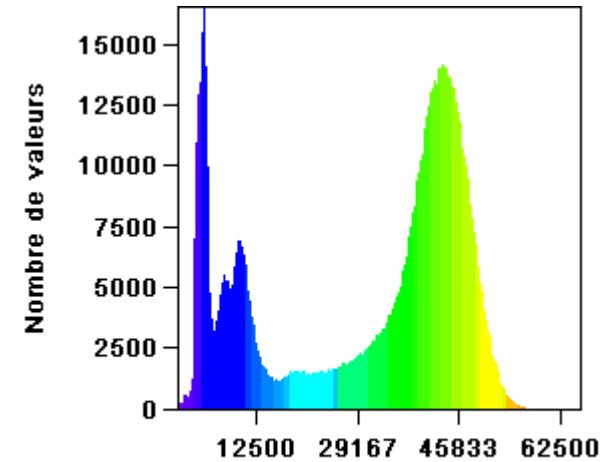
Niveau de gris

T= 0 (avant inoculation)



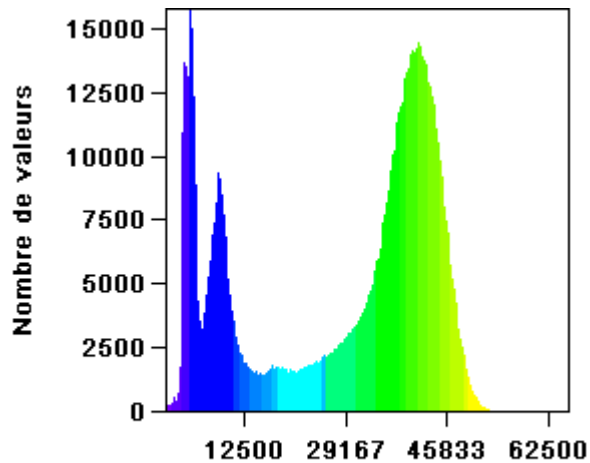
Niveau de gris

T= 8 jours



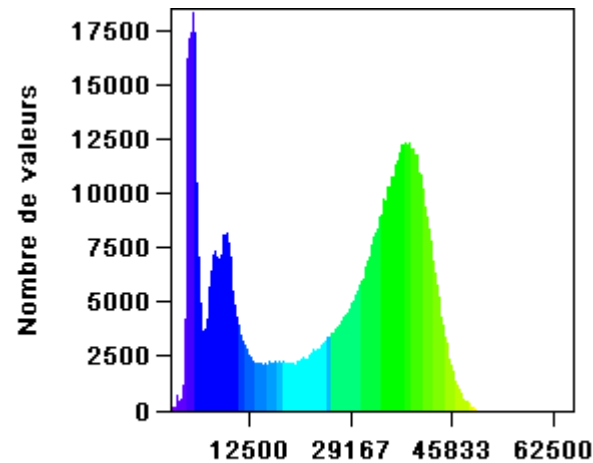
Niveau de gris

T= 14 jours



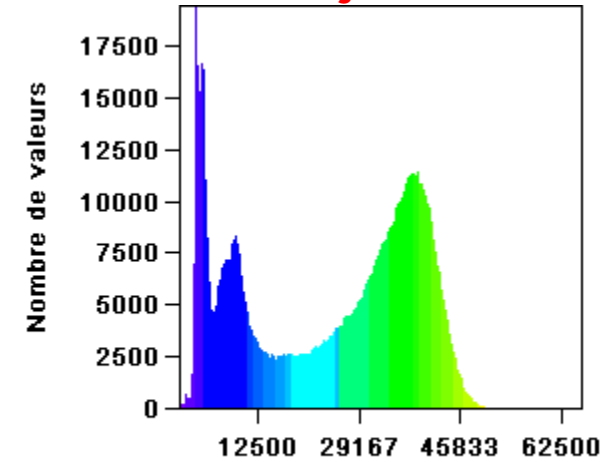
Niveau de gris

T= 24 jours



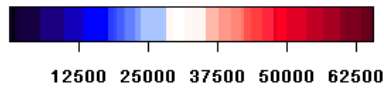
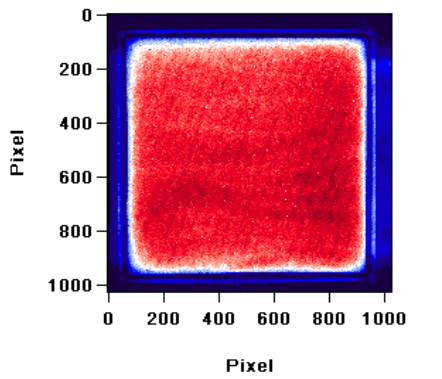
Niveau de gris

T= 29 jours

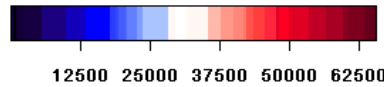
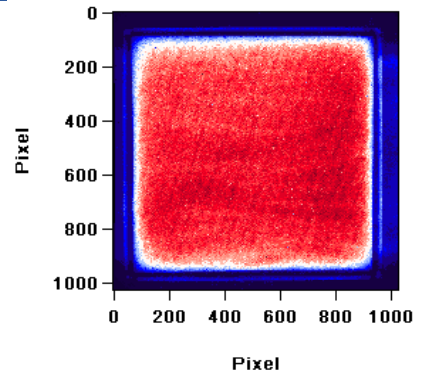


Niveau de gris

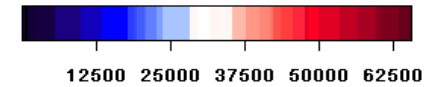
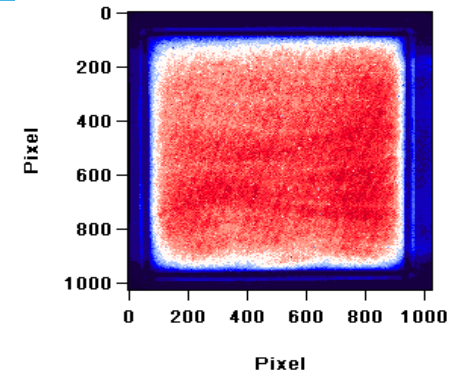
T= 34 jours 15



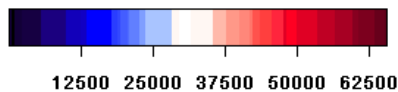
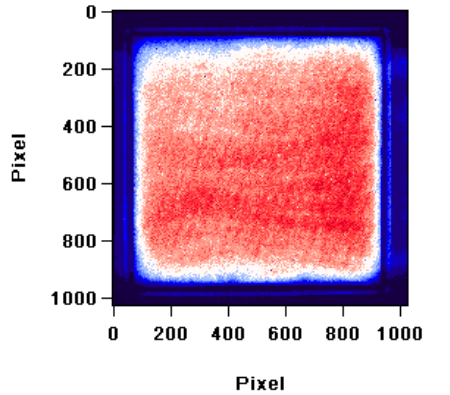
T= 0 (avant inoculation)



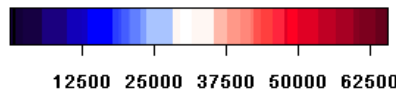
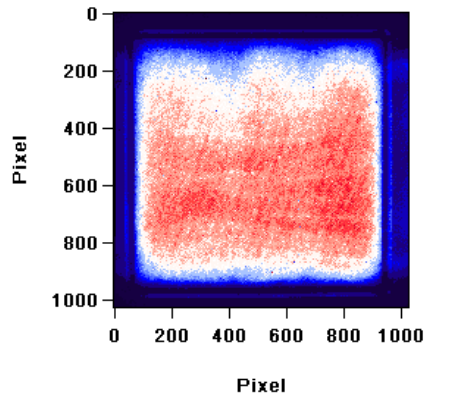
T= 8 jours



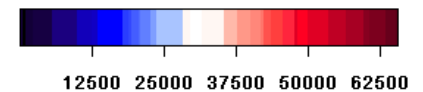
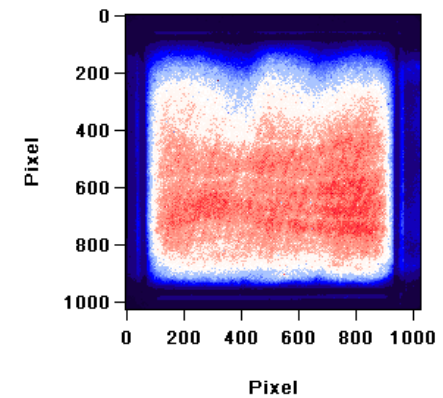
T= 14 jours



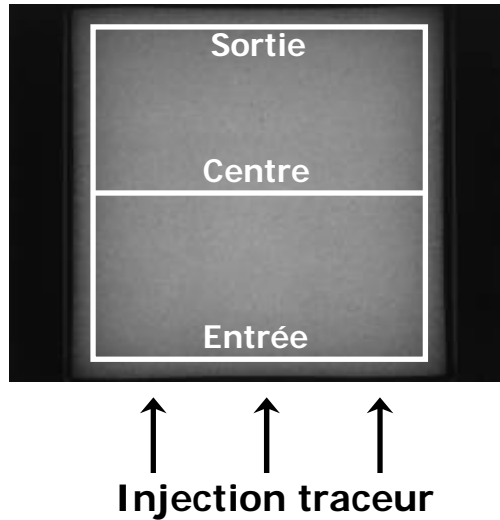
T= 24 jours



T= 29 jours

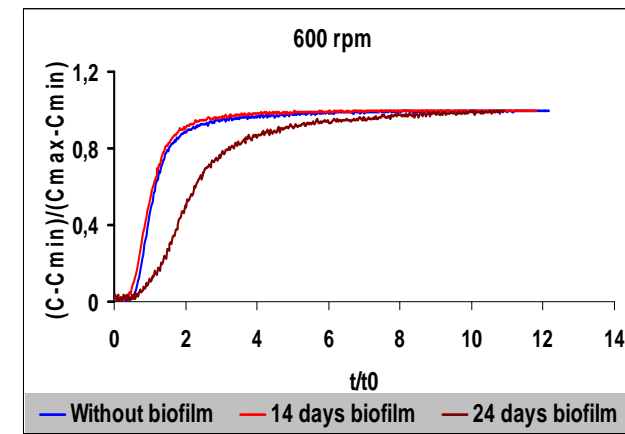
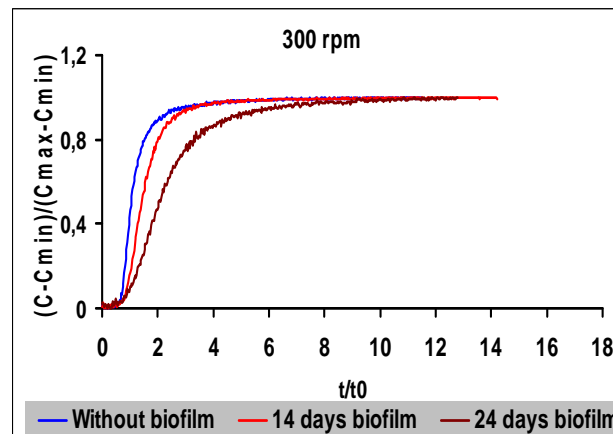
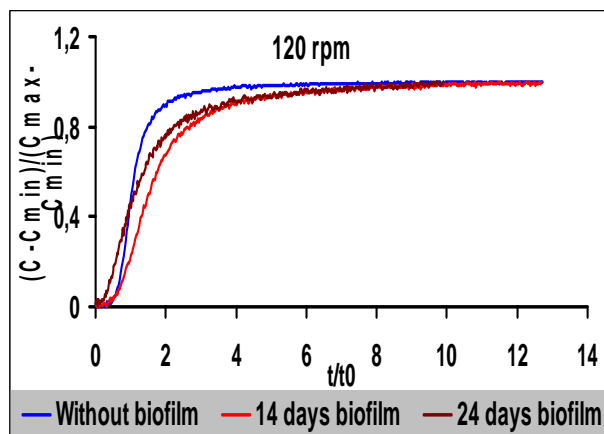


T= 34 jours



- ❖ Mesure du champ de concentration par absorption lumineuse: loi de Beer Lambert
- ❖ Traitement d'images
- ❖ Calibration pixel par pixel
- ❖ Détermination du champ de concentration par la méthode des moments spatiaux et temporels
- ❖ Trois vitesses d'écoulement testées

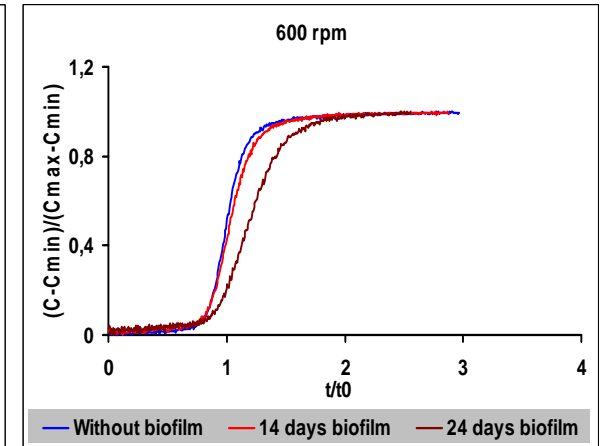
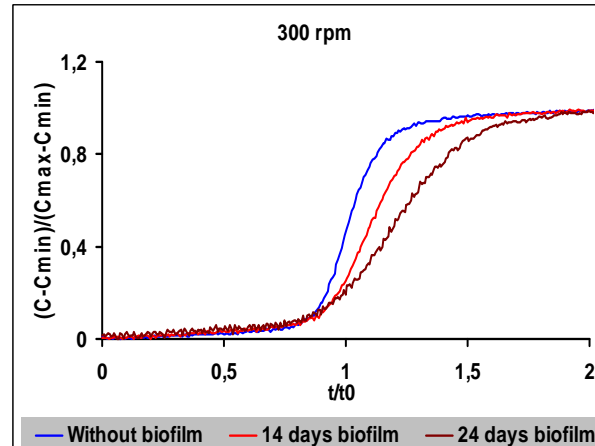
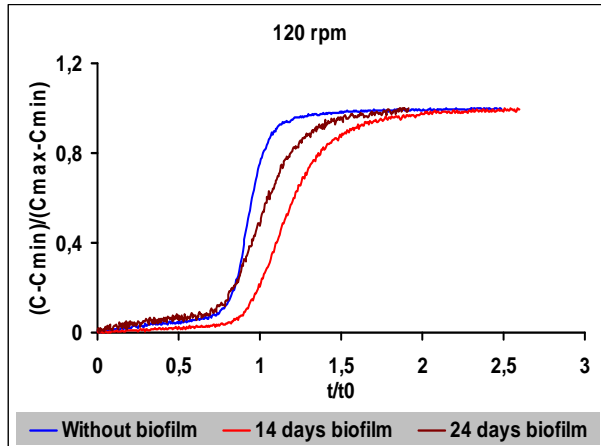
Courbes de percée en entrée



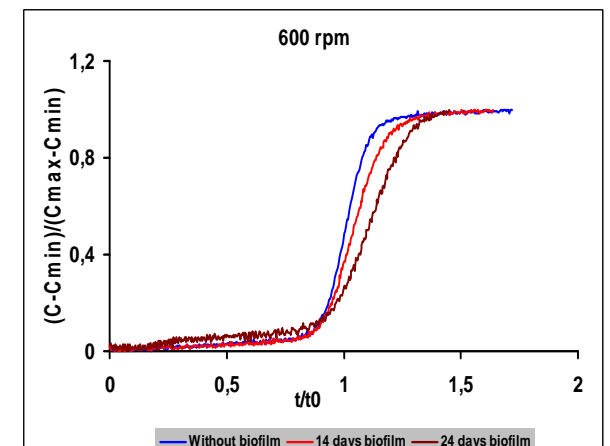
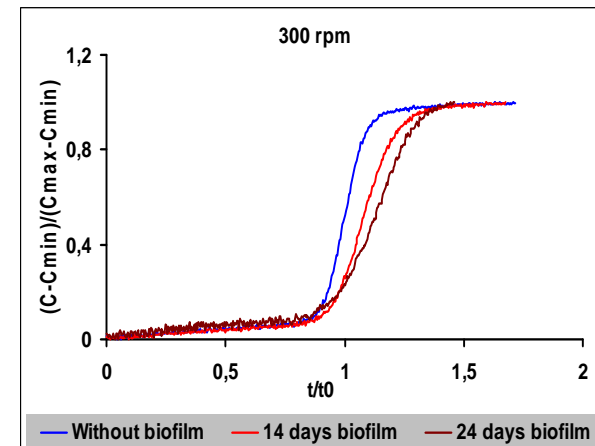
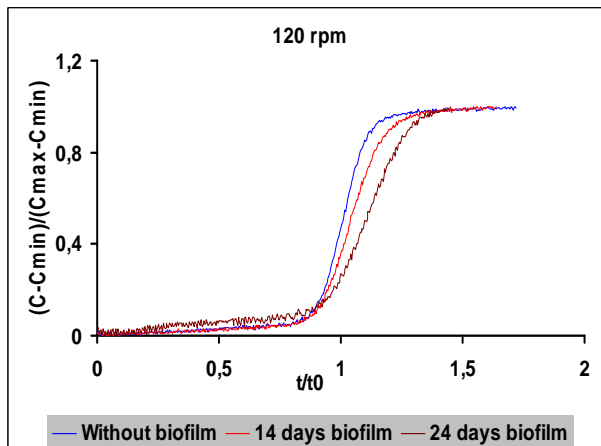
Tous les essais de traçage sont réalisés en milieu poreux saturé

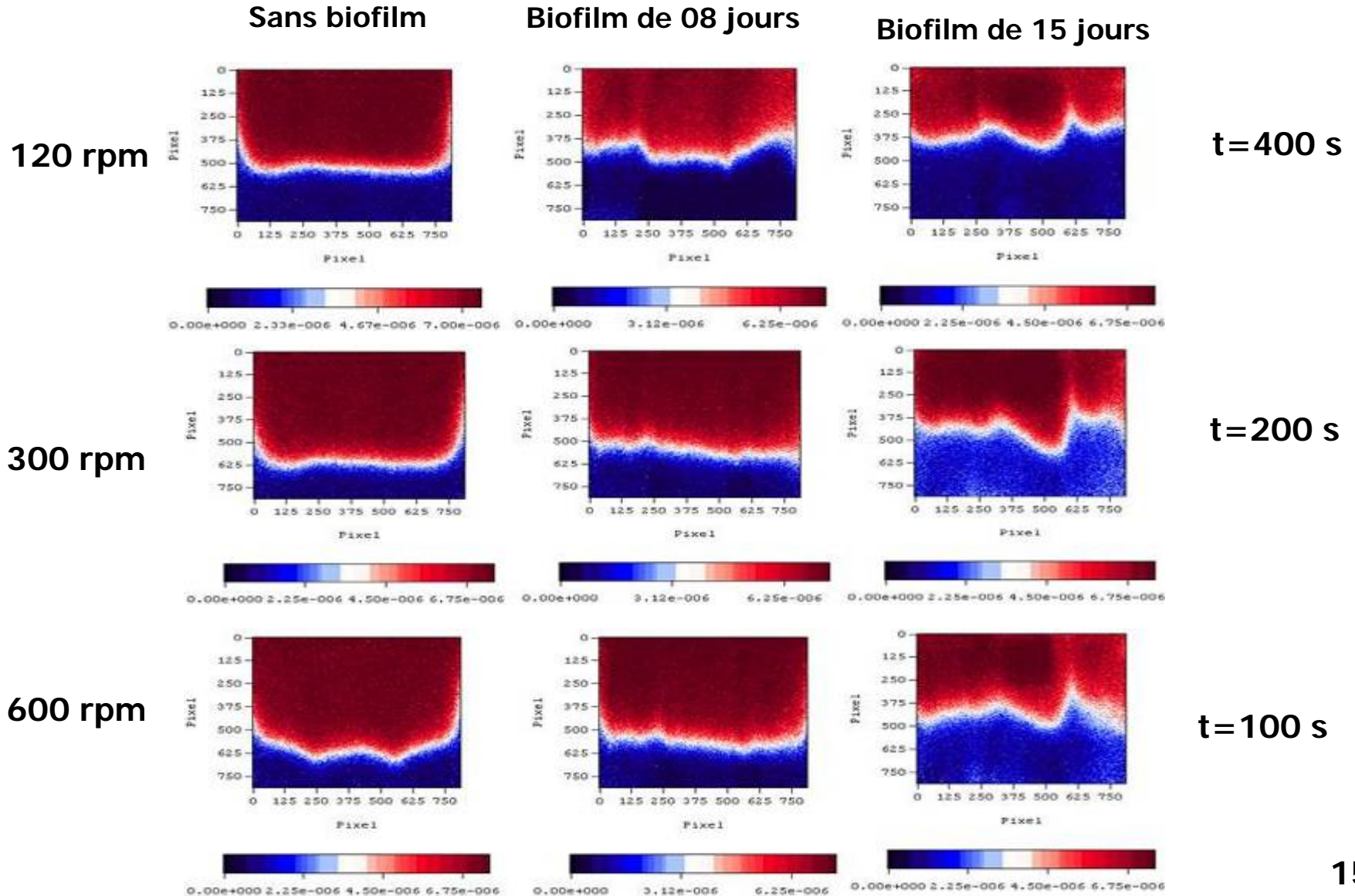


Courbes de percée au centre



Courbes de percée en sortie







- ❑ Mise au point d'un modèle expérimental destiné à l'acquisition du champ de concentration d'un soluté dans un milieu poreux
- ❑ Mise en évidence de l'influence du biofilm sur les propriétés hydrodynamiques
- ❑ Méthode fiable(?) de caractérisation du biofilm en milieu poreux

- ❑ Maîtrise de la pollution des nappes à l'échelle du bassin versant grâce à une meilleure compréhension des interactions se produisant à l'échelle microscopique dans les sols pollués

- ❑ Amélioration des méthodes de dépollution des sols contaminés grâce à des outils prédictifs fiables pour l'analyse des scénarios de bioremédiation.

- ❖ Cinétique de réaction
- ❖ Distribution spatiale de la pollution

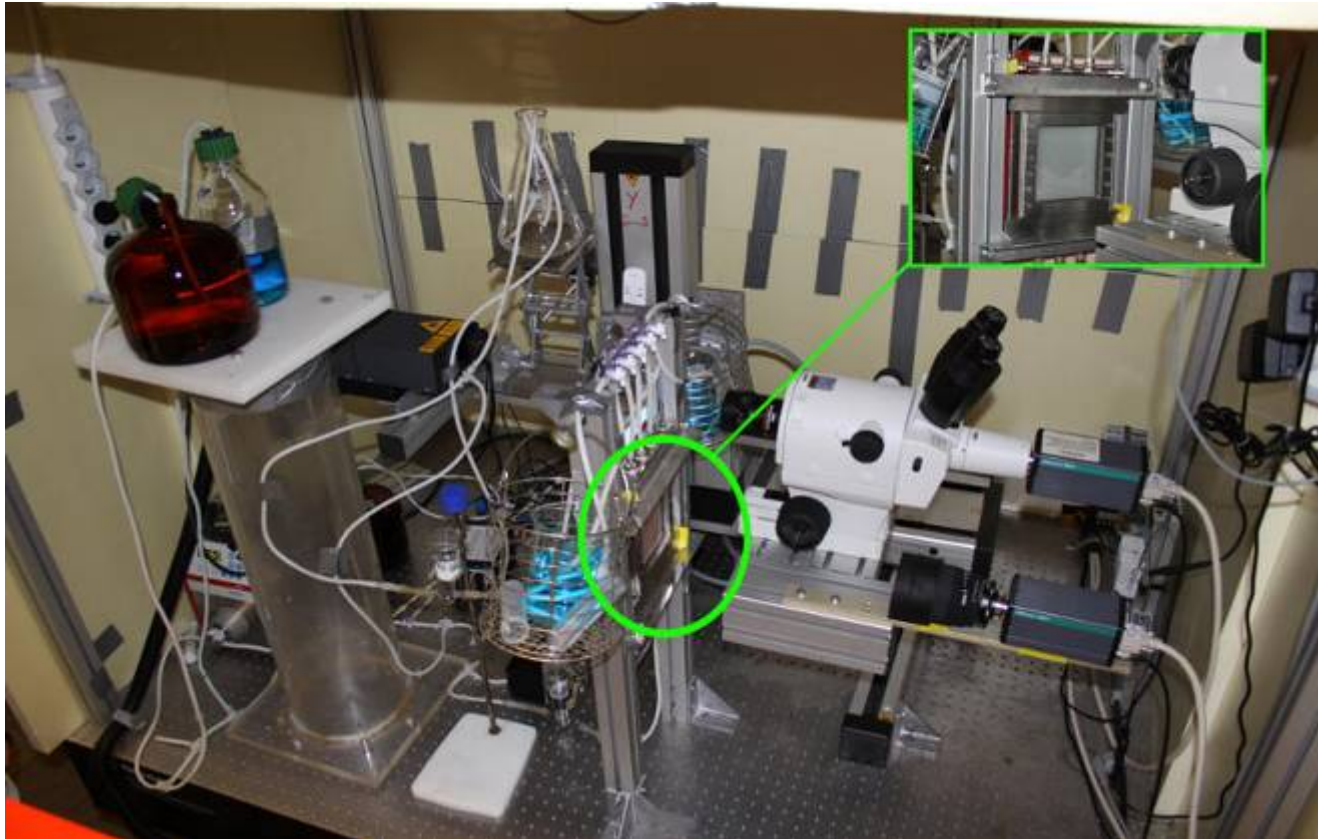


❖ À COURT TERME

- Etude du transport réactif avec un colorant alimentaire biodégradable
- Caractérisation quantitative du biofilm : Fraction volumique du biofilm, fraction volumique des bactéries actives...

❖ À LONG TERME

- Etude des interactions NAPL-croissance du biofilm
- Test de visualisation *in situ* du biofilm par fluorescence Laser



Merci

De

Votre Attention !